

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 06-040909

(43)Date of publication of application : 15.02.1994

(51)Int.Cl.

A61K 31/35
A61K 31/35
C07D311/36

(21)Application number : 04-197018

(71)Applicant : KOBE STEEL LTD

(22)Date of filing : 23.07.1992

(72)Inventor : TANIMURA HIROSHI
MIMURA MORIO
TAKAHARA YOSHIMASA

(54) SUPEROXIDE-DISMUTASE-LIKE ACTIVATION AGENT

(57)Abstract:

PURPOSE: To provide the subject agent containing as an active ingredient 4',7,8- trihydroxyisoflavone which is suitable for administration in bodies and excellent in stability and absorbability in the bodies, trapping active oxygen and free radicals, and acting on the protection of the bodies.

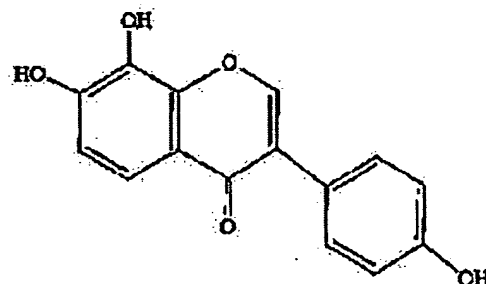
CONSTITUTION: The superoxide.dismutase-like active agent contains 4',7,8- trihydroxyisoflavone of the formula as an active ingredient. The compound of the formula is suitable for administration in bodies, has an excellent

superoxide.dismutase (SOD)-like activity, and is good in stability and absorbability, when administered in the bodies.

The 4',7,8-trihydroxyisoflavone is obtained by culturing a microorganism belonging to the genus *Aspergillus*. When the

active oxygen, etc., can not be controlled only by the SOD

contained in a body, the employment of the medicine reinforces the SOD action in the living body.



(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報(A)

(31)特許出願公開番号

特開平6-40909

(43)公開日 平成6年(1994)2月15日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	片内整理番号	F I	技術表示箇所
A 61 K 31/35	A E D	9860-4C		
	A D D	9860-4C		
C 07 D 311/38		7252-4C		

審査請求 未請求 請求項の数1(全 4 頁)

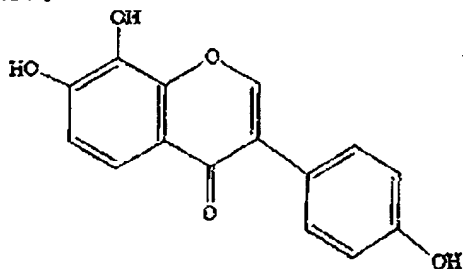
(21)出願番号	特願平4-197018	(71)出願人	000001199 株式会社神戸製鋼所 兵庫県神戸市中央区臨浜町1丁目3番18号
(22)出願日	平成4年(1992)7月23日	(72)発明者	谷村 博司 茨城県つくば市観音台1丁目25番14号 株式会社神戸製鋼所筑波研究地区内
		(72)発明者	三村 精男 茨城県つくば市観音台1丁目25番14号 株式会社神戸製鋼所筑波研究地区内
		(72)発明者	高原 義昌 茨城県つくば市観音台1丁目25番14号 株式会社神戸製鋼所筑波研究地区内
		(74)代理人	弁理士 植木 久一

(54)【発明の名称】 スーパーオキシド・ディスムターゼ様活性剤

(57)【要約】

【構成】 下式で示される4', 7, 8-4', 7, 8-トリヒドロキシフラボンを有効成分として含有するスーパーオキシド・ディスムターゼ様活性剤。

【化1】



【効果】 体内での安定性・吸収性に優れたスーパーオキシド・ディスムターゼ様活性剤を提供することができるようになった。

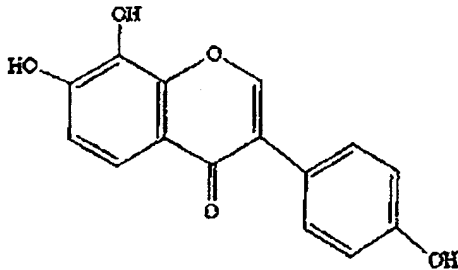
(2)

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下式で示される4', 7, 8-トリヒドロキシイソフラボンを有効成分として含有することを特徴とするスーパーオキシド・ディスムターゼ様活性剤。

【化1】



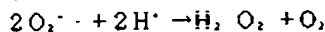
【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は体内での安定性・吸収性に優れたスーパーオキシド・ディスムターゼ (super oxide dismutase, 以下SODという) 様活性剤に関する。

【0002】

【従来の技術】 近年、例えばキサンチン・オキシダーゼの作用によってキサンチンから尿酸が生成する過程で生じる過酸化イオンに代表される様な生体中の活性酸素やフリーラジカルが、各種疾患 (動脈硬化、虚血性疾患、白内障、リウマチ等) の病態増悪因子として作用していることが明らかになってきた。生体内ではSODが下記に示す反応により：



活性酸素やフリーラジカルをトラップしその防衛に働いているが、多量の活性酸素が発生し、生体内にあるSODだけでは防衛できなくなった場合に、上記病態の増悪がおこる。そこでこれら生体中のSOD作用を補強するために、生体外から例えばリポソーム化SODとして投与する試みがなされているが、SODは高分子の蛋白質であるので、体内での吸収性や安定性が悪いという問題がある。そこで安定性・吸収性の高いSOD様活性物質の開発が望まれていた (日本薬師会雑誌第39巻、1097頁、1987年)。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 本発明は以上の様な状況に鑑みてなされたものであって、その目的は、安定性・吸収性が高く、しかも優れたSOD様活性を有する薬剤を提供することにある。

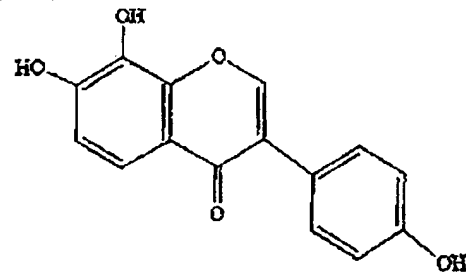
【0004】

【課題を解決するための手段】 上記課題を解決することのできた本発明のSOD様活性剤は、下式で示される4', 7, 8-トリヒドロキシイソフラボンを有効成分として含有することに要旨を有する。

2

【0005】

【化2】



10

【0006】

【作用】 本発明者らは、体内投与に適し且つSOD様活性を有する化合物に関して種々検討した結果、4', 7, 8-トリヒドロキシイソフラボンが優れたSOD様活性を有し、しかも体内投与した場合安定性・吸収性が良好であることを見出した。

【0007】 4', 7, 8-トリヒドロキシイソフラボン化学合成法としてはカルマルカルが1961年に報告した方法 (J. Sci. Industr. Res., 20B巻、334頁、1961年) が知られており、や放線菌の培養物から単離する方法 (特開平2-124883号公報) が知られている。尚その急性毒性は、フナヤマ等の報告 (J. Antibiotics; 42巻、9号、1350~1355頁、1989年) によればマウス100mg/kgの投与でも毒性が認められないことが確認されている。

【0008】 4', 7, 8-トリヒドロキシイソフラボンはSOD等の蛋白質と比べるとはるかに低分子であり (分子量270)、このために体内投与した場合の吸収性や安定性に優れているものである。

【0009】 4', 7, 8-トリヒドロキシイソフラボンの製造方法に関しては、上記の公知技術に従って製造してもよいが、本発明者らは効率的な方法としてアスペルギルス属に属する微生物が培養物中に4', 7, 8-トリヒドロキシイソフラボンを生産することを見出し、別途出願した。

【0010】 使用される微生物はアスペルギルス属に属し4', 7, 8-トリヒドロキシイソフラボン生産能を有するものであれば特に制限されないが、例えばアルベリギルス・ニガー (Aspergillus niger) アスペルギルス・ウサミ (Aspergillus usami)、アスペルギルス・アワモリ (Aspergillus awamori) 等が挙げられる。上記アスペルギルス属に属する微生物の代表例として、アスペルギルス・ニガー IFO 4414が挙げられる。

【0011】 これらの微生物の菌学的性質は、バーシーズ・マニュアル・オブ・システムティック・バクテリオ

50

ロジ：第8版、ザ・ウィリアムズ・アンド・ウィルキンス社出版）に記載されており、これら菌株は公的微生物保存機関から容易に入手できるものである。これらの微生物を培養するにあたっては、通常真菌類を培養する方法を適用すればよく、培地や培養条件も使用する微生物に応じて適宜決定すればよい。

【0012】培地成分は、使用する微生物が消化できる物質であれば特に制限はなく、炭素源としては、グルコース、糖蜜、デンプン、大豆粉、コーン・スチープ・リカー、ポテトエキス、或はグルコース、ショ糖などの糖類等を単独で或は2種以上を組み合わせて用いることができる。また窒素源としては、例えばペプトン、肉エキス、酵母エキス、乾燥酵母、コーン・スチープ・リカー、フィッシュ・ミール、大豆粉、大豆蛋白分解物、カゼイン、アミノ酸、尿酸等の有機窒素化合物またはアンモニア、アンモニウム塩、硝酸塩等の無機窒素化合物を用いることができる。その他必要に応じ、ナトリウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩、リン酸塩等の無機塩類、更には亜硫酸、ビタミン等の微量栄養素、発育促進物質を適宜添加してもよい。

【0013】培養は振とうまたは通気攪拌培養等によって好気的条件下で行うのが好ましい。培養温度は20～35℃の範囲が好ましく、25～35℃がより好ましい。培養時間は、通常1～7日間であるが、好ましくは培養物中の4'、7、8-トリヒドロキシソフラボンの蓄積量が最大に達したときに培養を終了すればよい。液体培養において発泡があるときは、シリコン油、植物油、界面活性剤等の消泡剤を適宜使用すればよい。これらの培地組成、培地の液性、培養温度、通気量などの条件は、用いる微生物の種類或は外部の条件等に応じて好ましい結果が得られるように適宜調節、選択されることは言うまでもない。

【0014】このようにして得られた培養物の全体、或は菌体若しくは培養液から採取することができる。まず培養物全体から採取する場合は、培養物を凍結乾燥してその凍結乾燥物を含水アセトンなどの含水親水性有機溶媒で抽出し、得られた抽出液を減圧濃縮する。得られた粗物質は更に、脂溶性物質の精製に通常用いられる公知の方法、例えばカラムクロマトグラフィーによって精製することができる。また菌体から採取する場合には、まず遠心分離によって菌体と培養液とに分離する。得られた菌体から前記と同様の方法で抽出、分離、精製して4'、7、8-トリヒドロキシソフラボンを得ることができる。

【0015】また、培養液から4'、7、8-トリヒドロキシソフラボンを取り出すには、得られた培養液を酢酸エチル等の非親水性有機溶媒で抽出するか、或は活性炭、アルミナ、多孔性合成高分子、イオン交換樹脂等の吸着剤に吸着させて酢酸エチルなどの溶出溶媒で溶出し、得られた抽出液または溶出液を減圧濃縮し、前

記と同様の方法で分離精製することができる。

【0016】本発明の薬剤は、経口及び非経口の投与のいずれにも使用可能であり、それに応じた剤型を選ぶことができる。経口投与の場合、錠剤、散剤、顆粒剤、軟・硬カプセル剤、液剤として投与され、非経口投与の場合、水溶性懸濁液、油性製剤等の皮下、静脈或は筋肉注射、点滴剤、固体状又は懸濁粘濁液状として坐薬等の剤型で投与され得る。

【0017】本発明の有効成分の製剤化は、通常に従い、界面活性剤、賦形剤、滑沢剤、佐剤及び必要に応じて医薬的に許容し得る皮膚形成物質、コーティング助剤等を用いて行なうことができ、以下にその具体例を挙げる。

【0018】本発明の薬剤の崩壊・溶出を良好にするために、界面活性剤、例えばツイーン60、ポリソルベート80で代表される様なアルコール、エステル類、ポリエチレングリコール誘導体、ソルビタンの脂肪酸エステル類、硫酸化脂肪アルコール類等の1種ないし2種以上を添加することができる。

【0019】また、賦形剤として、例えばショ糖、乳糖、デンプン、結晶セルロース、マンニット、軽質無水珪酸、アルミン酸マグネシウム、メタ珪酸アルミン酸マグネシウム、合成珪酸アルミニウム、炭酸カルシウム、炭酸水素ナトリウム、リン酸水素カルシウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム等の1種又は2種以上を組合せて添加することができる。

【0020】滑沢剤としては、例えばステアリン酸マグネシウム、タルク硬化油等を1種又は2種以上添加することができる。矯味剤及び矯臭剤として、食塩、サッカリン、糖、マンニット、オレンジ油、カンゾウエキス、クエン酸、ブドウ糖、メントール、ユーカリ油、リンゴ酸等の甘味剤、香料、着色料、保存料等を含有させてもよい。懸濁剤、湿潤剤の如き佐剤としては、例えばココナット油、オリーブ油、ゴマ油、落花生油、乳酸カルシウム、ペニバナ油、大豆リン脂質等を含有させることができる。

【0021】また皮膚形成物質としては、酢酸フタル酸セルロース(CAP)、またアクリル酸共重合体、二塩基酸モノエステル類等のポリビニル誘導体としてアクリル酸メチル・メタアクリル酸共重合体、メタアクリル酸メチル・メタアクリル酸共重合体が挙げられる。

【0022】また、上記皮膚形成物質をコーティングするに際し、通常使用されるコーティング助剤、例えば可塑剤の他、コーティング操作時の薬剤相互の付着防止のための各種添加剤を添加することによって皮膚形成剤の性質を改良したり、コーティング操作をより容易にならしめることができる。なお、有効成分を皮膚形成物質を用いてマイクロカプセル化してから賦形剤等と混合した剤型としてもよい。

【0023】本発明の薬剤の投与量は、十分なSOD様

活性を発揮する量であり、症状、投与経路、剤型等を考慮して適宜決定されるものであるが、有効成分である4', 7, 8-トリヒドロキシイソフラボンの量として、一般に経口投与の場合、大人約0.01~100mg/kg体重/日、小児では0.01~60mg/kg体重/日の範囲であり、その上限は好ましくは約40mg/kg体重/日である。また、非経口投与の場合その上限は100mg/kg体重/日程度であり、好ましくは4mg/kg体重/日程度である。

*

4', 7, 8-トリヒドロキシイソフラボン	1mg
ラクトース	76mg
コーンスターチ	20mg
ステアリン酸マグネシウム	3mg
無水珪酸	100mg

【0026】試験例1 (SOD活性の測定)
通常使用されているSOD様活性の評価法であるNBT還元法(和光純薬製「SODテストワコー」として市販されている)を用いて行った。(バイオサイエンス インダストリー46巻 391頁 1988年)。比較例として牛赤血球SODを用いた。結果を表1に示す。※20

供試剤	SOD様活性 (U/mg)
4', 7, 8-トリヒドロキシイソフラボン	520
牛赤血球SOD	3250

【0028】表1から明らかなように本発明に係る4', 7, 8-トリヒドロキシイソフラボンは、牛赤血球SODの約1/6のSOD様活性を示した。

【0029】

*【0024】

【実施例】以下実施例を挙げて本発明を更に詳細に説明するが、下記実施例は本発明を制限するものではなく、前・後記の趣旨を逸脱しない範囲で変更実施することは全て本発明の技術的範囲に含まれる。

【0025】実施例1 (錠剤例)

(1) 錠剤例

常法に従って下記の組成で錠剤を作製した。

※尚、SOD様活性の単位(U)は、NTBの還元を指標し、牛赤血球SODの単位を3250U/mgと標準設定しその値との比較計算により行なった。

【0027】

【表1】

【発明の効果】本発明は以上の様に構成されており、体内での安定性・吸収性に優れしかもSOD様活性の高い薬剤を提供できる。